DIE TRANSFORMATION VON TESTOSTERON UND Δ^4-ANDROSTENDION, DEHYDROEPIANDROSTERON SOWIE CORTICOSTERON DURCH FETTGEWEBE DES MENSCHEN IN VITRO

BEATE BERLETH

1972

AUS DER I. MEDIZINISCHEN KLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof.Dr. H. SCHWIEGK

DIE TRANSFORMATION VON TESTOSTERON UND $\triangle^4$-ANDROSTENDION, DEHYDROEPIANDROSTERON SOWIE CORTICOSTERON DURCH FETTGEWEBE DES MENSCHEN IN VITRO

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

BEATE BERLETH

aus München

1972

franz bielmeier offset 8 münchen 5

Herrn Professor Dr. Max Lange in Dankbarkeit
gewidmet

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät

der Universität München

Berichterstatter: Prof.Dr. H.J. Karl

Mitberichterstatter: Prof.Dr. H. Schwiegk

Dekan: Prof.Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 5. 12. 1972

Die Transformation von Testosteron und Δ^4-Androstendion, Dehydroepiandrosteron sowie Corticosteron durch Fettgewebe des Menschen in vitro.

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

DISPOSITION

A. Einleitung
B. Fragestellung
C. Methode
   I. Reagentien
   II. Herstellung der Inkubationslösung
   III. Chromatographiesysteme
   IV. Arbeitsvorschrift
      a) Ansatz
      b) Inkubation
      c) Extraktion
      d) Chromatographie
      e) Lokalisation der radioaktiven Steroide auf den Chromatogrammen
      f) Messung der Radioaktivität
D. Vorversuche
E. Ergebnisse
   I. Testosteron
   II. Androstendion
   III. Dehydroepiandrosteron
   IV. Corticosteron
F. Diskussion
G. Zusammenfassung
H. Literaturverzeichnis

EINLEITUNG

Seit langem ist bekannt, daß Steroidhormone in der Leber abgebaut werden. Untersuchungen an eviscerierten Tieren ergaben jedoch, daß in vivo auch andere Organe hierzu offenbar in der Lage sind. (1)

So wurde z.B. durch in vitro-Versuche ein Stoffwechsel von Cortisol und Cortison, Progesteron (2), Testosteron (3), Androstendion (4), Dehydroepiandrosteron (5) und Östron (6) in Nebennierengewebe selbst nachgewiesen. Auch Hodengewebe verschiedener Tierarten metabolisiert Progesteron (7), Testosteron (8) und Androstendion (9), menschliche Ovarien ebenso Progesteron (10), Testosteron (11,12) und Androstendion (13) und Pferdeovarien Dehydroepiandrosteron (14). Die menschliche Placenta baut Progesteron (15), Testosteron, Androstendion (16,5), aber auch Cortisol (17,18) ab.

Auch die Muskulatur des Menschen transformiert Cortisol (18), Kaninchenmuskel Testosteron (19) und Androstendion (19,20,21). Außerdem können Erythrocyten des Menschen und des Kaninchens Östron abbauen. (22)

In Kulturen von Rattenfibroblasten konnte der Abbau von Corticosteron (23), im Bindegewebe von Cortisol (24,25) und in der Hirnrinde der Tiere, der von Cortisol und Cortison nachgewiesen werden.

Nierengewebe metabolisiert Cortisol und 17 -Östradiol (27,28) und menschliche Haut kann Testosteron ab - bauen. (29)

1969 wurde beschrieben (31), daß auch durch Fettgewebe vom Menschen in vitro Cortisol und Cortison zu Reichsteins' Substanzen U und E transformiert werden.

FRAGESTELLUNG

Unsere Untersuchungen sollten klären, ob die folgenden Steroidhormone

I) Testosteron

II) Δ^4-Androstendion

III) Dehydroepiandrosteron

IV) Corticosteron

unter jeweils analogen Versuchsbedingungen durch menschliches Fettgewebe aus dem Omentum maius und aus der Subcutis metabolisiert werden.

In Vorversuchen wurde zunächst geprüft, ob gegebenenfalls eine bakterielle Verunreinigung der Versuchsansätze Einfluß auf die Transformation der Steroidhormone hat und ob der Metabolismus der Steroide zellgebunden verläuft, oder ob die Enzyme in die Pufferlösung übergehen und erst hier mit den Hormonen reagieren.

METHODIK

I. Reagentien

a) radioaktiv markierte Hormone (New England Nuclear Corp., Bethesda, USA)

4-^{14}C- Cortisol, spez. Akt. 21,0 mC/mMol
4-^{14}C- Corticosteron, Spez.Akt. 55,8 mC/mMol
4-^{14}C- Testosteron, spez. Akt. 50,0 mC/mMol
4-^{14}C- Androstendion, spez. Akt. 58,4 mC/mMol
4-^{14}C- Dehydroepiandrosteron, spez. Akt. 14,4 mC/mMol

b) Krebs-Ringer-Stammlösung, steril

NACL	8,26 g	282,0	mMol
$CaCl_2.2H_2O$	335,90mg	6,85	mMol
KCl	422,00mg	11,35	mMol
$MgSO_4.7H_2O$	350,00mg	2,835	mMol
KH_2PO_4	193,50mg	4,27	mMol

Aqua bidest. ad 1000 ml

c) Natriumbikarbonatlösung, steril
1,438 g (3,42 mMol) $NaHCO_3$
Aqua bidest. ad 100 ml

d) Dichlormethan
e) Diäthyläther
f) Äthanol abs.
g) Methanol
h) n-Hexan
i) Toluol
j) Benzol
k) Petroleumbenzin, Kp. 50 - 70° C
l) Methanol-Chloroform 1:1
m) Szintillatorflüssigkeit

4g 2,5 Diphenyloxazol (PPO) und 0,1 g 1,4-bis-2-(4-Methyl-5-phenyl-oxazolyl)-benzol (POPOP),

Packard Instrument Comp., Illinois, USA

Toluol ad 1000 ml

Soweit nicht anders angegeben, wurden p.a. - Substanzen der Fa. Merck, Darmstadt, verwendet.

II. Herstellung der Inkubationslösung

Der Pufferansatz erfolgt zu jedem Versuch neu. 109 ml Krebs-Ringer-Stammlösung und 20 ml Natriumbicarbonatlösung werden in einem Kolben pipettiert und im Wasserbad bei 37°C mit Carbogengas (95% Sauerstoff und 5 % Kohlendioxid) durchströmt, dabei stellt sich die Lösung auf einen P_H-Wert von 7,38 ein. Der Kolben wird luftdicht verschlossen.

III. Chromatographiesysteme

System Bush B 50

500 ml Benzol, 250 ml Äthanol abs. und 250 ml bidestilliertes Wasser werden in einen Scheidetrichter gefüllt, kräftig geschüttelt und 24 Stunden stehen gelassen. Dann werden untere stationäre und obere mobile Phase getrennt.

System Bush A_2

Mit 500 ml Petroleumbenzin (Kp. 50 - 70°C), 350 ml Methanol und 150 ml bidestilliertem Wasser wird wie oben verfahren.

IV. Arbeitsvorschrift

a) Ansatz

Das jeweilige Steroid wird in erforderlicher

Menge (Cortisol 0,16 µg, Corticosteron 0,25 µg, Testosteron 0,15 µg, Androstendion 0,2 µg, Dehydroepiandrosteron 0,002 µg) in zwei Warburg-Kölbchen pipettiert und im Exsikkator bei 37°C unter Vakuum zur Trockne gebracht.
1,5 g menschliches Fettgewebe aus der Subkutis oder dem Omentum maius - bei operativen Eingriffen entnommen - werden in 1-2 mm große Stücke zerschnitten und mit 10 ml Pufferlösung in eines der Kölbchen gegeben. In das zweite Kölbchen (Leerwert) werden nur 10 ml Puffer pipettiert. Es wird im weiteren wie der eigentliche Versuchsansatz behandelt, um einen etwaigen, vom Fettgewebe unabhängigen Hormonstoffwechsel verfolgen zu können.

b) Inkubation
Die Kölbchen werden im Warburg-Apparat (Braun-Melsungen, Typ V 166) bei 37°C 10 Minuten mit Carbogengas durchströmt, luftdicht verschlossen und unter ständigem Schütteln, Frequenz 100/Min. 2-24 Stunden inkubiert.

c) Extraktion
Bei den Versuchen mit Cortisol oder Corticosteron wird das Inkubationsmedium über einen Filter in einen Scheidetrichter dekantiert. Das Fettgewebe wird dreimal mit je 10 ml Pufferlösung, die jeweils wieder dekantiert wird, gewaschen und verworfen. Die wäßrige Phase wird viermal mit je 50 ml Dichlormethan 5 Minuten ausgeschüttelt, die organischen Phasen, die die Hormone enthalten, werden abgetrennt und in einem Kolben vereinigt. Bei den Versuchen mit

Testosteron, Δ^4-Androstendion und Dehydroepiandrosteron - Steroide, die eine geringe Polarität aufweisen und daher nicht vollständig in die Pufferlösung übergehen - werden Fettgewebe und Pufferlösung zusammen mit je 50 ml Diäthyläther ausgeschüttelt und die Ätherphasen vereinigt. Die Extrakte werden am Rotationsverdampfer eingeengt. Um die Lipide abzutrennen, wird jeder Extrakt in 50 ml Methanol und 25 ml n-Hexan gelöst, 20 Minuten maschinell geschüttelt und 5 Minuten bei 300 U/min zentrifugiert. Die lipidhaltige Hexanphase wird dann abgetrennt und verworfen, die wäßrige Phase erneut mit Hexan verteilt und die Reinigung wie beschrieben wiederholt.
Der gereinigte Extrakt aus der wäßrigen Phase wird am Rotationsverdampfer zur Trockne eingedampft und zweimal mit je 1 ml Methanol-Chloroform 1:1 in ein Spitzglas übergespült.

d) Papierchromatographie
Auf 3 cm breiten und 40 cm langen Papierstreifen (Whatman 1) werden Extrakt, Leerwert und die jeweilige Reinsubstanz nebeneinander aufgetragen. Für Cortisol und Cortison wird System Bush B 50, für die androgenen Steroide System Bush A_2 verwendet; Laufzeit bei 25°C in beiden Systemen etwa 4,5 Stunden.

e) Lokalisation der radioaktiven Steroide auf den Chromatogrammen
Die Streifen werden im Radiopapierchromatogramm Scanner (Packard Instrument Comp., Illinois, USA, Typ 7201) ausgewertet. Dabei wird folgende Einstellung benützt: Spaltbreite 2 mm, Meßbereich 300,

Dämpfung 30, Spannung 0,85 kV und Laufgeschwindigkeit 0,2 cm/min.
Aus den Impulsmaxima wird durch Vergleich mit den jeweiligen Reinsubstanzen und den Leerwerten die Lokalisation des eingesetzten Hormons und seiner Metaboliten ermittelt.

f) Messung der Radioaktivität
Die Zonen der Impulsmaxima werden aus den Chromatogrammstreifen ausgeschnitten und getrennt dreimal mit je 10 ml Äthanol abs. im Wärmeschrank bei 40°C je eine Stunde eluiert.
Die Eluate werden abgedampft und in 4 ml Äthanol abs. gelöst. Je 1 ml hiervon und 10 ml Szintillatorflüssigkeit werden in 2 Packard-Meßgläschen einpipettiert. Im Tricarb Liquid Scintillation Spectrometer (Packard, Typ 3002) werden die ausgesendeten Impulse zweimal 10 Minuten lang gezählt. Die Werte werden nach Abzug des Nulleffekts gemittelt. Aus den Impulszahlen der Eluate, die den Aktivitätsmaxima der Chromatogrammstreifen entsprechen, kann, bezogen auf die Aktivität des gesamten Chromatogrammstreifens, sodann der prozentuale Anteil der gebildeten Metaboliten berechnet werden.

VORVERSUCHE

Versuch 14.11.

Patient: Na.Ma., weiblich, geb. 5.3.1912

Eingriff: Rectum-Amputation

Ansätze

1) 0,16 µg ^{14}C-Cortisol, 10 ml Pufferlösung (Leerwert)
2) 0,16 µg ^{14}C-Cortisol, 1,5 g Omentum maius, 10 ml Pufferlösung
3) wie 2), zusätzlich 2000 IE Penicillin G (Bayer)
4) wie 2), zusätzlich 1 mg Cialit^{R}(2-(äthyl-mercuri-mercapto)-benzoxazol-5-carbonsaures Natrium), Asid-Institut München

Ergebnis:

Ansatz	Cortisol	Cortison	Reichstein's Cp.E:	Reichstein's Cp.U:
	%	%	%	%
1	100	--	--	--
2	45	30	6	19
3	53	29	6	12
4	100	--	--	--

Tabelle 1: Prozentuale Aktivitätsverteilung in den einzelnen Zonen des Chromatogramms, bezogen auf die Gesamtaktivität

Versuch 1.4.

Patient: Lu.He., männlich, geb. 25.5.1921
Eingriff: Pyloroplastik

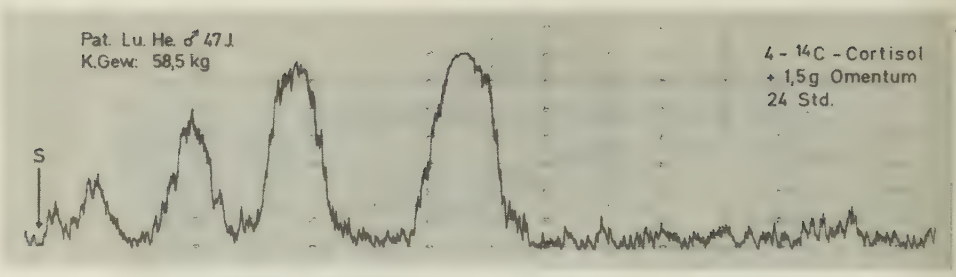
Ansätze:

1) 0,16 µg- ^{14}C-Cortisol, 1,5 g Omentum maius, 10 ml. Puffer
2) 1,5 g Omentum maius und 10 ml Pufferlösung wurden 6 Stunden inkubiert, dann dekantiert und das Fettgewebe verworfen. Dem Überstand wurden 0,16 µg 4- ^{14}C-Cortisol zugesetzt.

Inkubationszeit: 24 Stunden

Ergebnis: Während in Ansatz 1) neben Cortisol die Metaboliten Cortison, Reichstein's Compound E (E_R) und Reichstein's Compound U (U_R) erschienen, fand sich in Ansatz 2) nur Cortisol. (siehe Abb. 1 und 2, Seite 12)

Das Ergebnis der Versuche weist darauf hin, daß der Metabolismus der Steroidhormone an die Fettzelle "gebunden" ist und das entsprechende Enzymsystem nicht oder nicht wesentlich in die Pufferlösung diffundiert.



E_R U_R Cortisol Cortisol

Abb. 1: Radiopapierchromatogramm des Versuchs 1.4., 1.Ansatz
S = Start
E_R= Reichstein's Compound E
U_R= Reichstein's Compound U

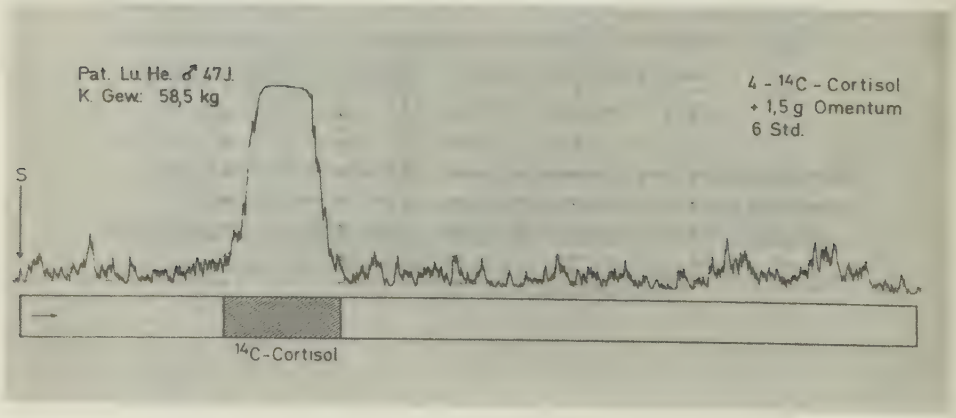


Abb. 2: Radiopapierchromatogramm des Versuchs 1.4., 2. Ansatz

ERGEBNISSE

I. Testosteron

Standardansatz: 0,15 µg 4-^{14}C-Testosteron, 1,5 g Fettgewebe vom Menschen, 10 ml Puferlösung

Versuch 5.11.

Patient: Ka.Ma., männlich, geb.: 6.4. 1903
Eingriff: Porto-cavale Anastomose

1) Ansatz: 24 Stunden Inkubationszeit (Abb.3)
2) Ansatz: 30 Stunden Inkubationszeit (Abb.4)

Ergebnis: Als einziger Metabolit fand sich in beiden Versuchen Δ^4-Androstendion in folgender Verteilung:

1) Ansatz: 38,6% Testosteron
61,4% Δ^4-Androstendion

2) Ansatz: 46,4% Testosteron
53,6% Δ^4-Androstendion

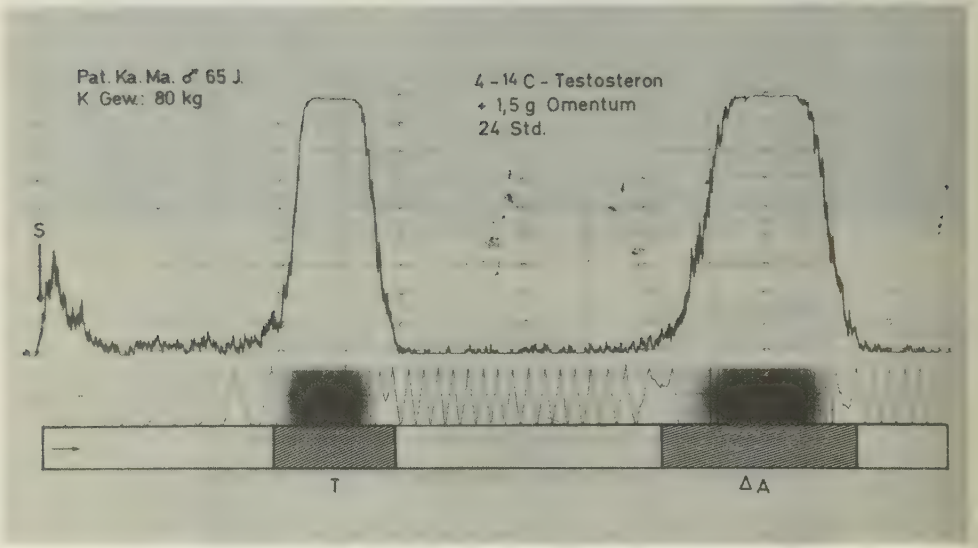


Abb.3: Radiopapierchromatogramm des Versuchs vom 5.11.
1. Ansatz
Metabolisierung von Testosteron (T) zu
^{4}-Androstendion (A)

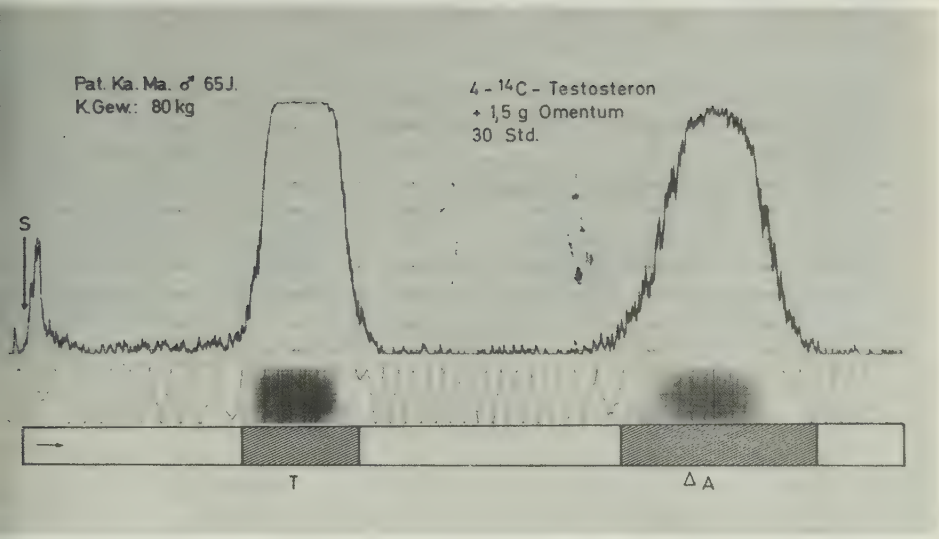


Abb.4: Radiopapierchromatogramm des Versuchs vom 5.11.
2. Ansatz
Transformation von Testosteron (T) zu
^{4}-Androstendion (A)

Versuch am 7.1.

Patient: El. Ba., weiblich, geb. 4.9. 1932
Eingriff: Cholecystektomie

1) Ansatz: 4 Stunden Inkubationszeit
2) Ansatz: 8 Stunden Inkubationszeit

Ergebnis: Als einziger Metabolit fand sich
Δ^4-Androstendion

Verteilung:	Testosteron	Δ^4-Androstendion
1)	37,1%	62,9%
2)	64,7%	35,3%

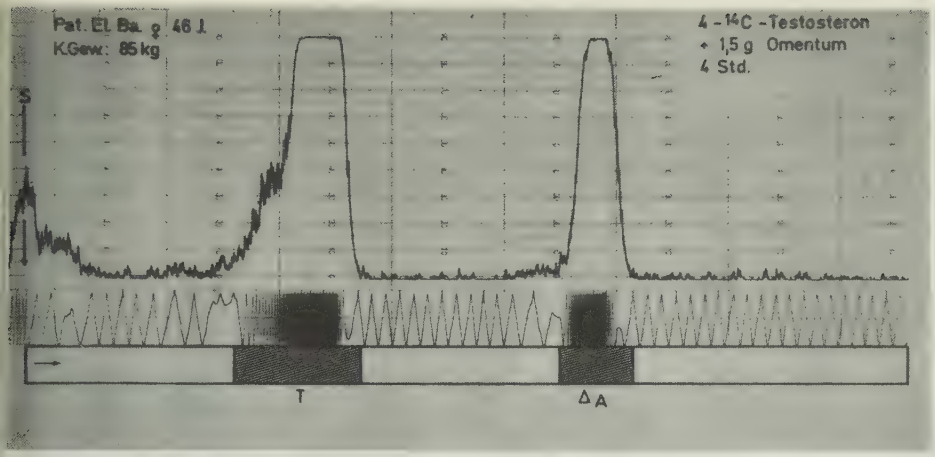


Abb.5: Radiopapierchromatogramm des Versuchs 7.1.,1.Ansatz
Transformation von Testosteron (T) zu
Δ^4-Androstendion (ΔA) bei einer Inkubationszeit von
4 Stunden

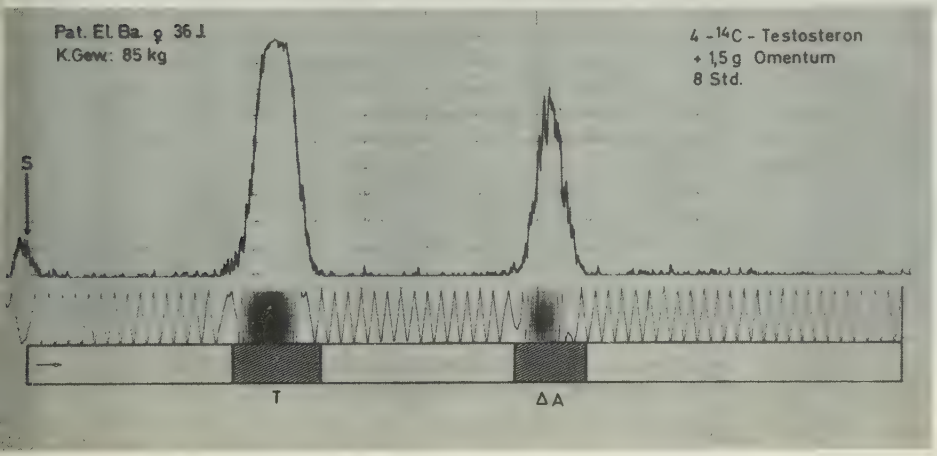


Abb.6: Radiopapierchromatogramm des Versuchs 7.1.,2.Ansatz
Transformation von Testosteron (T) zu Δ^4-Androstendion
(ΔA) bei einer Inkubationszeit von 8 Stunden.

Versuch 14.1.

Patient: Sa., weiblich, geb.: 20.1.1927

Eingriff: Cholecystektomie

1) Leerwert (Abb.7)

2) Ansatz 8 Stunden Inkubationszeit (Abb.8)

Ergebnis: Im Leerwert fand sich nur Testosteron, im Ansatz als einziger Metabolit Δ^4-An-

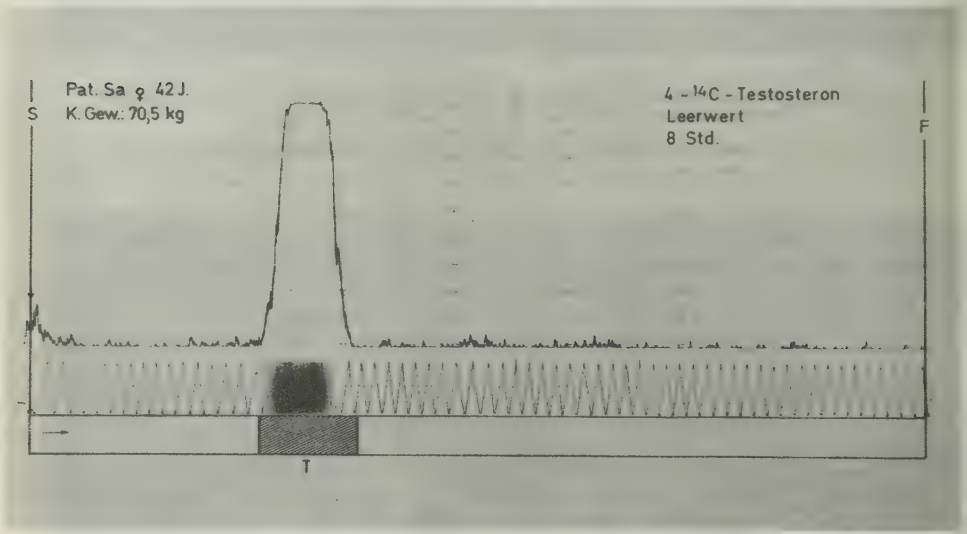


Abb.7: Radiopapierchromatogramm des Versuchs 14.1. Leerwert (T= Testosteron)

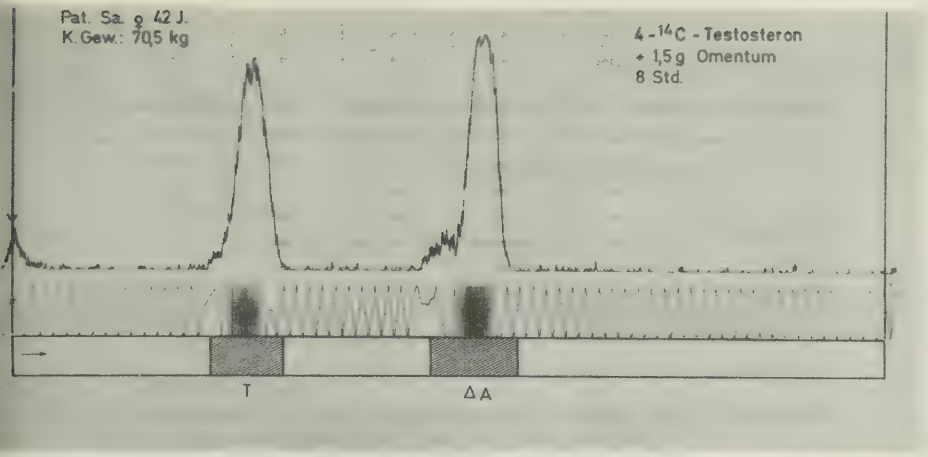


Abb.8: Radiopapierchromatogramm des Versuchs 14.1. Transformation von Testosteron (T) zu Δ^4-Androstendion (ΔA) bei einer Inkubationszeit von 8 Stunden.

In allen Versuchen wurde Testosteron in Δ^4-Androstendion umgewandelt. Bereits nach 4 Stunden lagen 60% Δ^4-Androstendion vor. Die Umwandlungsrate wurde durch längere Inkubationszeit bis zu 30 Stunden nicht erhöht.

Die Transformation von Testosteron in Δ^4-Androstendion durch Fettgewebe ist offenbar vom Geschlecht der Patienten unabhängig, da die Menge des gebildeten Androstendions bei den beiden weiblichen und dem männlichen Probanden in der gleichen Größenordnung lag.

II. Androstendion

Ansatz: 0,2 µg 4-^{14}C- Androstendion, 1,5 g Omentum maius
10 ml Pufferlösung

Versuch 7.1.

Patient El.Ba. weiblich, geb. 4.9.1932

Eingriff: Cholecystektomie

1) Ansatz 4 Stunden Inkubationszeit (abb.9)

2) Ansatz 8 Stunden Inkubationszeit

Ergebnis: In beiden Ansätzen fand sich Δ^4-Androstendion und in der Testosteronenzone eine geringe Aktivität, die weniger als 1% der eingesetzten Gesamtaktivität betrug.

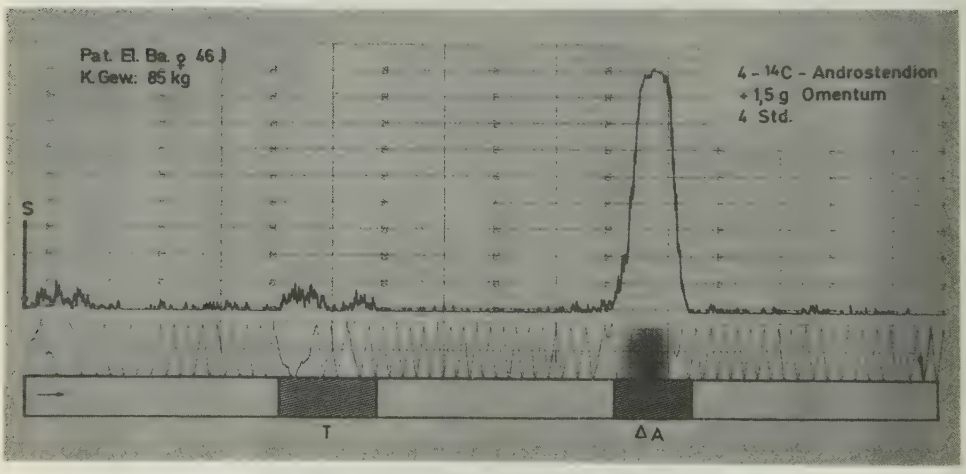


Abb.9: Radiopapierchromatogramm des Versuchs 7.1.
1) Ansatz
Transformation von Androstendion (Δ A) zu Testosteron (T)

Versuch 14.1.

Patient: Sa., weiblich, geb.: 20.1.1927

Eingriff: Cholecystektomie

1) Leerwert

2) und 3) Ansätze Inkubationszeit 8 Stunden

Ergebnis: In allen Ansätzen fand sich nur das eingesetzte Δ^4-Androstendion und keine Aktivität im Bereich der Testosteron-Zone.

Versuch 28.1.

Patient: Ja.Sa., männlich, geb.: 6.2. 1921

Eingriff: Cholecystektomie

1) Leerwert Inkubationszeit 8 Stunden
2) Ansatz Inkubationszeit 4 Stunden (Abb.10 A, S.22)
3) Ansatz Inkubationszeit 8 Stunden
4) Ansatz Inkubationszeit 24 Stunden (Abb. 10 B, S.22)

Ergebnis:

Ansatz	Δ^4-Androstendion	Testosteron
1	100%	--
2	100%	--
3	98,2%	1,8%
4	94,4%	5,6%

Tabelle 2: Prozentuale Umwandlung von Δ^4-Androstendion in Testosteron im Versuch 28.1.

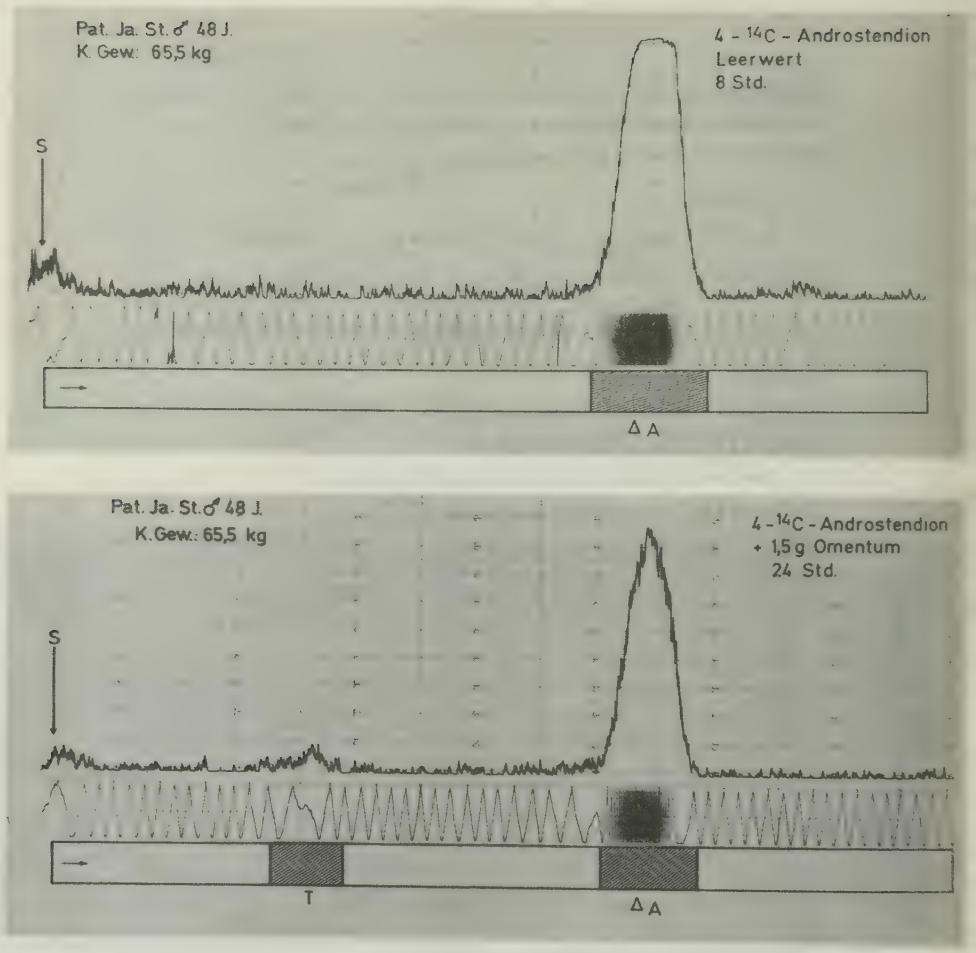


Abb. 10: Radiopapierchromatogramm des Versuchs 28.1. Transformation von ^{4}-Androstendion zu Testosteron bei einer Inkubationszeit von 24 Stunden (B) im Vergleich zum Leerwert (A)

Eine Umwandlung von Δ^4-Androstendion in Testosteron ließ sich nur in zwei Versuchen nachweisen. Im Versuch 28.1. ergab sich, daß nach 4 Stunden Inkubationszeit noch kein Testosteron im Extrakt vorlag, jedoch nach 8 Stunden 1,8% und nach 24 Stunden 5,6%.

III. Dehydroepiandrosteron

Ansatz: 0,002 µg 4-^{14}C-Dehydroepiandrosteron, 1,5 g Omentum maius, 10 ml Pufferlösung.

Versuch 12.2.

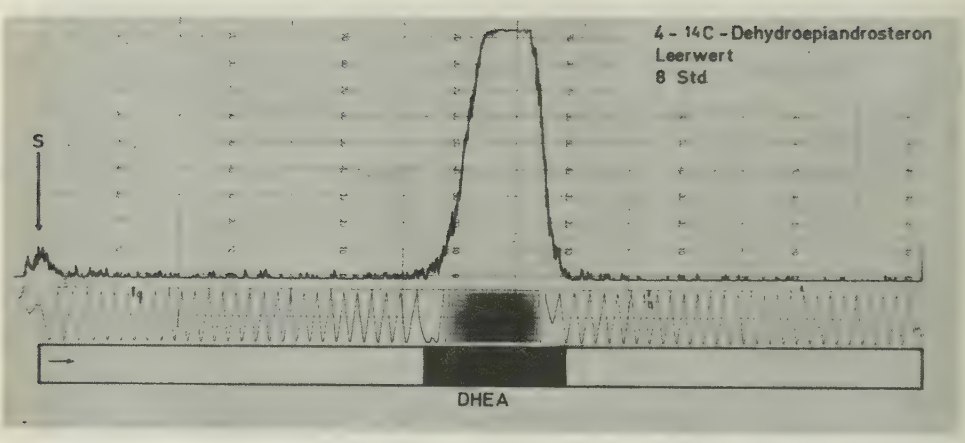
Patient: Ur.Kl., weiblich, geb. 5.3.1948
Eingriff: Cholecystektomie

1) Leerwert Inkubationszeit 8 Stunden
2) Ansatz Inkubationszeit 8 Stunden
3) Ansatz Inkubationszeit 24 Stunden

Ergebnis:

Ansatz	Startzone	Dehydroepiandrosteron
1	10,7%	89,3%
2	12.1%	87,9%
3	22,8%	77,2%

Tabelle 3: Verteilung der Radioaktivität auf den Chromatogrammen des Versuchs 12.2.



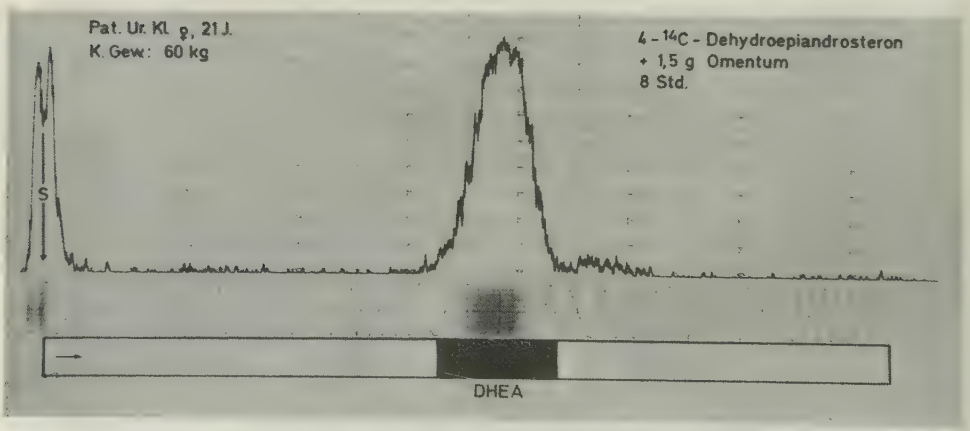


Abb. 11: Anstieg der Radioaktivität in der Startzone auf dem Radiopapierchromatogramm des Ansatz 2), verglichen mit dem Leerwertchromatogramm, Versuch 12.2.

S = Start,
DHEA = Dehydroepiandrosteron

In diesem Versuch fand sich, verglichen mit dem Leerwert, in der Startzone eine Aktivitätserhöhung von 1,4% nach 8 Stunden und von 12,1% nach 24 Stunden Inkubationszeit. Es könnte sich hierbei um Δ5-Androsten-3,17-diol, ein hochpolares Steroid handeln, das bei der Chromatographie an der Auftragestelle bleibt und sich daher nicht von der Startverunreinigung trennen läßt. Eine weitere Charakterisierung wurde nicht durchgeführt.

IV. Corticosteron

Ansatz: 0,25ug 4-^{14}C-Corticosteron, 10 ml Pufferlösung, Fettmenge wechselnd.

Versuch am 21.3.

Patient: An. Ob., weiblich, geb.: 4.9. 1922
Eingriff: Cholecystektomie

Ansätze:
1) Ansatz mit 1,5 g Omentum maius Inkubationszeit 6 Stunden
2) Ansatz mit 2,0 g Omentum maius Inkubationszeit 6 Stunden
3) Ansatz mit 2,0 g Omentum maius Inkubationszeit 8 Stunden

Ergebnis: Es fanden sich vier radioaktive Zonen.

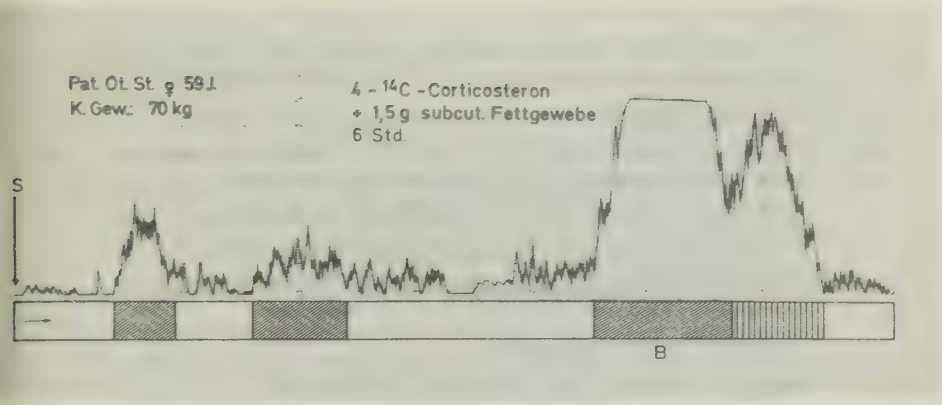
Versuch am 5.4.

Patient: Ot. St., weiblich, geb.: 29.1. 1901
Eingriff: Reposition einer Hiatushernie

Ansätze:
1) Ansatz mit 1,5 g Omentum maius Inkubationszeit 6 Stunden
2) Ansatz mit 1,5 g Omentum maius Inkubationszeit 8 Stunden
3) Ansatz mit 1,5 g Subcut. Fett Inkubationszeit 6 Stunden
4) Ansatz mit 1,5 g Subcut. Fett Inkubationszeit 8 Stunden

Ansätze 3) und 4) Abb. 12 A, 12 B.

Ergebnis: Auf den Chromatogrammen fanden sich vier radioaktive Zonen.



S = Start
B = Corticosteron

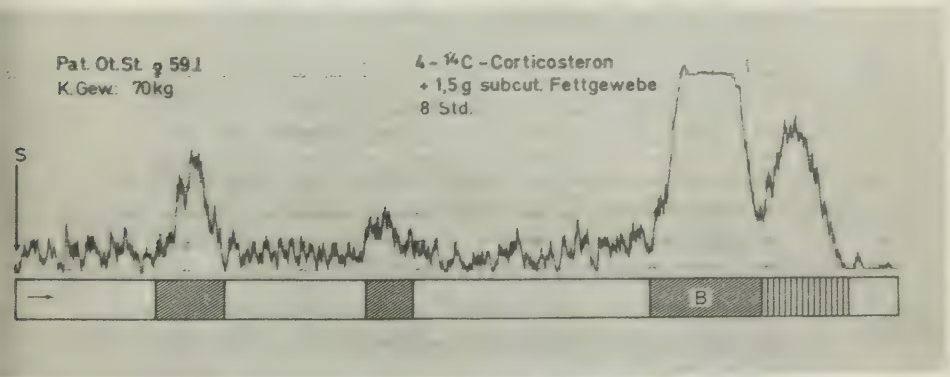


Abb. 12: Radiopapierchromatogramme des Versuchs 5.4. Ansätze 3) (A) und 4) (B), Transformation von 4-^{14}C-Corticosteron durch subcutanes Fettgewebe.

Die erhaltenen Chromatogramme wurden mit denen der Cortisolversuche und der Reinsubstanz verglichen. Hierbei war die 3. Zone mit Corticosteron identisch. Bei der 1. Zone könnte es sich um $\Delta 4$-Pregnen -11-20,21-triol-3-on handeln, das bereits bei der Inkubation menschlicher Fibroblasten mit Corticosteron gefunden wurde (24), bei der 2. um Δ^4-Pregnen-20, 21-diol-3,11β-on und bei der 4. Zone um 11-Dehydrocorticosteron.

Weitere Schritte zur Identifizierung der Metaboliten wurden nicht unternommen.

DISKUSSION DER ERGEBNISSE

In unseren Versuchen fanden wir eine Umwandlung von Testosteron in Δ^4-Androstendion. Nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden lagen etwa 60 % des eingesetzten Testosterons als Δ^4-Androstendion vor. Bei über 30-stündiger Inkubationszeit erhöhte sich die Umwandlungsrate nicht.

Menschliches Fettgewebe enthält daher offensichtlich eine 17β - Hydroxysteroid-Oxydoreduktase. Diese ist nicht mit dem gleichnamigen Enzym identisch, das im Plasma Schwangerer gefunden wurde, und das wahrscheinlich von der Placenta gebildet wird, da dieses Enzym nicht mit Testosteron reagiert. (31)

> Parallel zu dieser Arbeit wurden Untersuchungen mit Ovarialhormonen und menschlichem Fettgewebe durchgeführt. Hier fand sich eine Umwandlung von 17β-Östradiol in Östron, die wahrscheinlich durch das gleiche Enzym bewirkt wird. Hierbei betrug die Umwandlungsrate bei einer Inkubationszeit von 24 Stunden 95 % (32)

Im Vergleich zur Transformation von Testosteron zu Δ^4-Androstendion war die von Δ^4-Androstendion zu Testosteron sehr gering. Trotzdem kann angenommen werden, daß eine 17-Ketosteroid-Oxydoreduktase im menschlichen Fettgewebe vorliegt. Gestützt wird diese Annahme durch Versuche, die zeigen, daß auch eine geringe Umwandlung von Östron in 17β-Östradiol durch menschliches Fettgewebe erfolgt. (32)

Generell ist offenbar, wie auch aus Versuchen mit

anderen Geweben (Testes, Prostata, Haut) in vitro hervorgeht, das Gleichgewicht der Reaktion zur dehydrierten Verbindung hin verschoben.

Die Aktivität der aus der Leber isolierten 17-Ketosteroid-Oxydoreduktase ist abhängig von der Konzentration molekularen Sauerstoffs und von NADH im Medium. Es wäre deshalb denkbar, daß sich, z.B. durch Zusatz von NADH zum Ansatz, die Ergebnisse der Versuche geändert hätten.

Die Ergebnisse der Untersuchungen über den Cortisolmetabolismus durch Fettgewebe lassen den Schluß zu, daß im menschlichen Fettgewebe eine 11 β-Hydroxysteroid-Dehydrogenase, sowie eine 20 (α,β)-Hydroxysteroid-Dehydrogenase vorliegen . (30)

Unsere Untersuchungen konnten diese Aussage bestätigen und zeigen, daß beide Enzyme offenbar nicht substratspezifisch sind, da auch Corticosteron in annähernd gleicher Menge umgesetzt wird.

Der Metabolismus der Steroide war bei allen Hormonen unabhängig davon, ob Fettzellen von männlichen oder weiblichen Patienten eingesetzt wurden.

Durch Verluste bei den einzelnen Arbeitsgängen war die Wiederfindung der eingesetzten Radioaktivität mit etwa 10 - 20% in allen Versuchen verhältnismäßig gering.

Inwieweit der Stoffwechsel der Steroide, der in vitro für Testosteron, Δ^4-Androstendion, Dehydroepiandrosteron und Corticosteron nachgewiesen wurde, auch in vivo von Bedeutung ist, muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

ZUSAMMENFASSUNG

Bei unseren Versuchen wurde Fettgewebe des Menschen aus dem Omentum maius und aus der Subcutis mit ^{14}C-Testosteron, ^{14}C- Δ^4-Androstendion, ^{14}C-Dehydroepiandrosteron und ^{14}C-Corticosteron ohne Zusatz von Cofermenten 4,5 bis 30 Stunden (Puffer: Krebs-Ringer-Lösung, P_H 7,4) bei 37° inkubiert.

Es zeigte sich, daß Testosteron zu Δ^4-Androstendion und in geringerem Ausmaß auch Δ^4-Androstendion zu Testosteron unter den angegebenen Versuchsbedingungen metabolisiert werden.

Wurde Dehydroepiandrosteron als Substrat verwendet, trat ein hochpolarer Metabolit auf, der bei der papierchromatischen Auftrennung (System Bush A_2) an der Auftragestelle verblieb. Er wurde nicht weiter charakterisiert.

Bei der Inkubation von Corticosteron mit Fettgewebe wurde 11-Dehydrocorticosteron nachgewiesen. Darüberhinaus traten, quantitativ in geringerem Maß, zwei Metaboliten auf, bei denen es sich um Δ^4-Pregnen-11, 20,21-triol-3on und Δ^4-Pregnen-20,21-diol-3-11-on handeln könnte.

Aus den Untersuchungen kann geschlossen werden, daß im Fettgewebe des Menschen eine 17-Hydroxysteroid-Oxydoreduktase, eine 11β-Hydroxysteroid-Dehydrogenase, sowie außerdem vermutlich eine 20 (α,β)-Hydroxysteroid-Dehydrogenase vorliegen.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Zondek, B., Hormone des Ovariums und des Hypophysenvorderlappens, 2. Ausgabe, Springer-Verlag, Wien

2. Dorfman, R.I., und Ungar, F., Metabolism of Steroid Hormones New York, London Academic Press 1965 VIII

3. Carstensen, H.C.H., Demonstration of Aldosterone and Corticosterone as the Principal Steroids Formed in Incubates of Adrenals of the American Bull Frog (Rana catesbeiana) and Stimulation of their Production by Mammalian Adrenocorticotropin, Gen. Comp.Endocr. 1,37 (1961)

4. Chang, E., Mittelman, A. und Dao, T.L., Metabolism of 4 ^{14}C-Testosterone in normal Adrenal Homogenate, J. Biol. Chem. 218,913 (1963)

5. Hayano,M. und Dorfman, R.I., The Encymatic C-11 -Hydroxylation of Steroids, J. Biol.Chem. 201,175 (1963)

6. Meyer,A.S., Hayano,M., Lindberg,M.C., Gut,M. und Rogers,O.G., The Conversion of 4-Androstene-3, 17-dione-4-C^{14} and Dehydroepiandrosterone by Bovine Adrenal Homogenate Preparation, Acta Endocrinol. 18,148 (1955)

7. Ryan,K.J. und Engel, L.L., Interconversions of Estrone and Estradiol by Human Tissue Slices, Endocrinology 52,287 (1953)

8. Dominguez,O.V., Acevedo,H.F., Huseby,R.A. und Samuels,L.T., Steroid 21-Hydroxylase in Normal Testes and Malignant Interstitial Tumors, J.Biol.Chem. 235,2608 (1960)

9. Rabinowitz,J.L., Atompraxis 4,85 (1958) zitiert aus 2,S 173

10. Grosso,L. und Ungar, F., Steroids 3,67 (1964) zitiert aus 2, S 158

11. Warren,J.C., und Salhanick,H.A., Steroid Biosynthesis in the Human Ovary, J.Clin. Endocrinol.Metab. 21,1218 (1961)

12. Bagget, B., Engel,L.L., Savard,K. und Dorfmann,R.I., The Conversion of Testosterone 3-C 14 to C 14-Estradiol-17 by Human Ovarian Tissue, J.Biol.Chem. 221,931, (1956)

13. Sandor,T. und Levanthier,A., "In vitro" Production of Androgenic Steroids by Human Normal and 'Stein-Leventhal type' Ovarian Slices, Rev.Can.Biol. 19,445 (1960)

14. West,C.D. und Naville,A.H., The in vitro Conversion of Dehydroepiandrosterone 4-C 14 to Estrogens by Ovarian Tissue, Biochemistry 1,645 (1962)

15. Endrozi,E., Telegedy,G. und Martin,J., Analysis of 4-3- Ketosteroids in Human Placenta by Paper Chromatography Acta Physiol.Acad.Sci.Hung. 14,311 (1958)

16. Amatso,M., Experimental Studies on Steroid Aromation, Japan. J.Endocrinol. 38,1164 (1963)

17. Venning,E.H. und Sybulski,S., In vitro Biosynthesis of Steroids in Placental Tissue, Exc.Med.Intern.Cong.Ser. 51, 267 (1962)

18. Lipmann,M.M., Katz,F.H. und Jailer,J.W., An Alternate Pathway for Cortisol Metabolism: 6 -Hydroxycortisol Production by Human Tissue Slices, J.Clin. Endocrinol. Metab. 22,268 (1962)

19. Thomas,P.Z. und Dorfmann,R.I., Presence of a 17 -Dehydrogenase and Ring a Reductase in Skeletal Muscle, Exc.Med. Intern.Congr.Ser. 51,138 (1962)

20. Thomas,P.Z. und Dorfmann,R.I., Metabolism in vitro of Androst-4-ene3,17-dione 4 ^{14}C by Rabbit Skeletal Muscle Strips, J.Biol.Chem. 239,762 (1964)

21. Thomas,P.Z. und Dorfmann,R.I., Metabolism of Androst-4-ene-3,17-dione 4-C14 by Rabbit Muscle Supernatant Fluid, J.Biol.Chem. 239,766 (1964)

22. Gray,C.L. und Bischoff,F., Conversion of Estrone to Estradiol by Mammalian Red Cells, Am.J.Physiol. 180,279 (1955)

23. Berliner, D.L., Metabolism of (4-^{14}C)-Corticosterone by Fibroblasts, Strain U 12-79, Biochem.Biophys. Acta 38,184 (1960)

24. Berliner, D.L. und Dougherty, T.F., Metabolism of Cortisol by Mouse Connective Tissue, Fed.Proc.17, 189 (1958)

25. Berliner, D.L. und Dougherty,T.F., Metabolism of Cortisol by Loose Connective Tissue in vitro, Proc.Soc.Exptl. Biol.Med. 98,3 (1958)

26. Grosser, B.J. und Bliss,E.L., Metabolism of 11-Hydroxysteroids by Rat Cerebral Cortex in vitro, Fed.Proc. 22,271 (1963)

27. Ganis,F.M., Axelrod,L.R. und Miller, L.L., The Metabolism of Hydrocortisone by Kidney Tissue in vitro, J.Biol.Chem. 218,841 (1956)

28. Dowben, R.M. und Rabinowitz,J.L., Oxidation in vitro of Radioactive Preparations of Human Tissue, Nature 178,696, (1956)

29. Wotiz,H.H., Mescon,H., Doppel,H. und Lemon,H.M., The in vitro Metabolism of Testosterone by Human Skin, J.Invest. Dermatol. 26,113 (1956)

30. Karl, H.J., Raith,L. und Engelhardt,E., In vitro Transformation of Cortisol by Human Adipose Tissue, 14 Horm.Metab. Res. 1,95 (1969)

31. Breuer, J., Patt,V. und Breuer, H., Enzyme des Steroid-Stoffwechsels im Blut des Menschen, Z.klin.Chem. u. klin. Biochem. 474 (1969)

32. Engelhardt, D., Berleth,B., Raith,L. und Karl,H.J., Transformation von Destrogenen und Androgenen durch Fettgewebe d. Menschen in vitro, Symp. Dtsch.Ges.Endokrin., 15,172 (1969)

L E B E N S L A U F

Ich, Beate Berleth, wurde am 4. Januar 1945 als Tochter des Münchener Rechtsanwalts Franz Gill und seiner Ehefrau Elisabeth, geb. Käppel, in Reichenau/Kreis Konstanz geboren, wohin meine Mutter während des Kriegseinsatzes meines Vaters evakuiert war.
Von 1951 bis 1955 besuchte ich in München die Volksschule an der Boschetsrieder Straße und von 1955 - 1964 das Städt. Theodolinden-Realgymnasium. Am 21.7.1964 erhielt ich das Reifezeugnis und begann im Wintersemester 1964/65 das Studium der Medizin an der Ludwig-Maximilians-Universität.

Im Oktober 1965 bestand ich die Naturwissenschaftliche Vorprüfung und im Oktober 1967 die Ärztliche Vorprüfung.
Nach meiner Eheschließung mit Herrn Friedrich Berleth im August 1968 setzte ich das Studium der klinischen Fächer in München fort und bestand am 22.12.1970 die Ärztliche Prüfung.
Während meines klinischen Studiums führte ich unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Karl die zur Erlangung dieser Dissertation notwendigen Untersuchungen im Endokrinologischen Labor der I. Medizinischen Universitätsklinik durch und bin nach dem Medizinalassistentenjahr jetzt als Assistenzärztin in einer Münchener Privatklinik tätig.